

結合水 T_1 値の検出

Determination of Spin-Lattice Relaxation Time Related to Bound Water

金桶吉起 (中津川市民病院神経内科)
 古瀬和寛 (同 脳神経外科)
 水野 求 (同 放射線部)
 稲尾意秀 (同 脳神経外科)
 佐生勝義 (同 脳神経外科)
 吉田和雄 (同 脳神経外科)
 井澤 章 (同 放射線部)
 茂木禧昌 (同 神経内科)

キーワード

T_1 of bound water, tissue T_1 , bound water, thermal analysis

要 旨

Proton MR T_1 values for biological tissues have been accounted for by a simple equation derived from a two-state model, however, their T_1 of bound water (T_{1b}) have never been examined in detail. The model shows that T_1 value is determined by values of bound water fraction (α) and T_{1b} . These two values for gelatin solutions and three kinds of human tissues (sera, brain tumor tissues, and cerebral white matters) were investigated.

Bound water fractions in each sample were measured by means of thermal analysis (differential scanning calorimetry). T_1 values were measured by FONAR QED 80- α (magnetic field strength of the focused spot: 465 gauss, progressive saturation method). T_{1b} values were calculated from values of T_1 and α .

In the study of gelatin solutions (10~30%), relationship between T_1 and water content differed depending on the sorts of solutions. This was considered to be based on differences in T_{1b} values. In each biological tissue the values of T_{1b} and α had different distribution. T_{1b} values for sera were prolonged more than 80 msec, while those for many solid tissues remained around 50 msec. Values of α for brain tumor tissues ranged from 0.10 to 0.16, and T_{1b} values varied from 39 to 177 msec. These results indicate

that values of T_{1b} and α for biological tissues may be altered in correspondence to the changes in pathophysiological status in tissues.

1 はじめに

プロトン MR スピン格子緩和時間 T_1 値は、水素原子核に関する純粋な物理量である。生体組織から観測される T_1 値は、種々の影響を受け、その観測試料のさまざまな情報が含まれている¹⁾。その種々の要因のなかでもっとも大きなものは、観測対象の水分含有量と考えられており、実際多くの報告がそれを示している^{2)~6)}。ところで、two-state model によると、生体水は自由水と結合水から構成されており、これらを分離して計測し T_1 値に対する影響を検討すれば、さらに詳しい生体内の病態変化を捉えることが可能と思われる。そこで今回、ゼラチンおよび種々の生体組織における結合水 T_1 値の測定を試み、結合水モル分率とともにその意義について検討を行った。

2 理論的背景

生体水の構造として多くのモデル^{7)~9)}が提出されているが、ここでは two-state model^{10),11)}を採用する。すなわち、生体中の水の大部分は自由水であり、生体高分子に強く束縛されている結合水と速い交換を行っているとする、Zimmermanらの理論¹²⁾より次式が成立する。

$$1/T_1 = \alpha T_{1b} + (1-\alpha)/T_{1f} \quad (1)$$

ここで、 α は結合水モル分率、 T_{1b} は結合水の T_1 、 T_{1f} は自由水の T_1 である。

そして、 T_{1f} は純水の T_1 値で一定であるので、目的とする試料の結合水モル分率 (α) と T_1 値が得られれば、(1) 式により結合水の T_1 値 (T_{1b}) を求めることができる。

3 対象と方法

検討した試料は、①製造番号の異なる2種のゼラチン粉末 (和光純薬工業株式会社製, Lot No. ALG 3816 と Lot No. ALF 4743) より作製した濃度 70~90% の水溶液 A および B, ②生体組織として正常人 9 名, 脳腫瘍患者 5 名より採取したヒト血清, 手術的に摘出された脳腫瘍標本 7 例, 剖検脳標本 3 例である。

結合水モル分率 (α) は、示差走査熱量測定法 (differential scanning calorimetry: DSC)^{13),14)} により計測した。実際には、DSC 熱量計 (SSC/560 S 示差走査熱量計, セイコー電子工業製) を用いて、試料 10~30 mg を測定用アルミニウム容器に入れ、 -60°C まで $10^\circ\text{C}/\text{min}$ で等速冷却すると、自由水の凍結による発熱量は基準試料との温度差を 0 に保つべく与えられた熱量として DSC 曲線 (図 1) に描かれる。このピーク曲線で囲まれた部分の面積 (ピーク面積) から自由水量 (FW) を算出した。さらに乾燥法で水含有量 (W) を求め、それらの差から結合水量 (BW および BW/SC), 結合水モル分率 (α) を測定した (表 1-II)。

T_1 値測定は、FONAR QED 80 α MR システム (磁場強度 465 ガウス, ラーモア 周波数 2.12 MHz, 磁場焦点法, パルス系列は多点 τ 値による progressive saturation 法) により行った。また、すべて *in vitro*, 21°C で測定した。自由水の T_1 値 (T_{1f}) は、蒸留水の T_1 測定値 2.35 秒を用い

受 付 1986年4月7日
 最終稿受付 1986年4月20日
 別刷請求先 (〒508) 中津川市えびす町 1-33
 中津川市民病院神経内科
 金 桶 吉 起

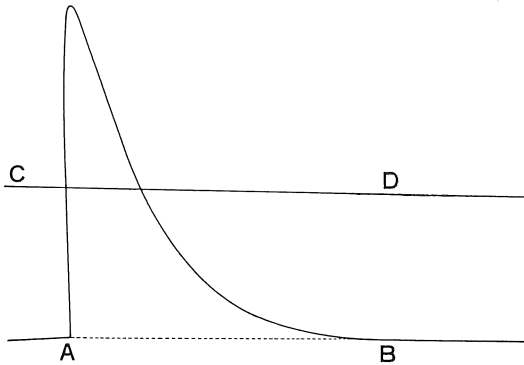


図 1 DSC curve

The amount of free water is proportional to the area surrounded by the curve and base line A-B. Line C-D represents the temperature of the sample.

た。

以上から得られた T_1 , T_{1f} , α を (1) 式 (表 1-I) に代入して, 結合水の T_1 (T_{1b}) を求め, α , W とともに検討した。

4 結 果

1 ゼラチン水溶液

製造番号の異なる 2 種のゼラチン粉末から作成した水溶液 (A, B : それぞれ水分含有量 70~90% で, 約 5% 幅の 5 段階) より 3~5 つのサンプルをとり, 水分含有量, 結合水モル分率 (α), T_1 値を実測した。そして, (1) 式よりそれぞれの結合水の T_1 値 (T_{1b}) を算出した (表 2)。ゼラチン水溶液 A, B ともに α は, 水分含有量 (W) の増加に従って次第に減少したが, BW/SC (k) はほぼ一定値をとった。そして, BW/SC の A の平均値 (0.78 ± 0.06) と, B の平均値 (1.0 ± 0.11) は統計的に有意差 ($p < 0.01$) を認めた。また T_1 値は, 水分含有量の増加により A, B ともに著明に延長を示したが, T_{1b} は軽度延長にとどまり, A の平均は 40.1 ± 6.9 msec, B は 108 ± 20 msec であり, B は A の 2 倍以上であった。ここで $1/W$

表 1 Formulae

I. Two-state model

$$\frac{1}{T_1} = \frac{\alpha}{T_{1b}} + \frac{1-\alpha}{T_{1f}}$$

$$T_{1f} = 2.35 \text{ (sec)}$$

II. Water components

$$W = \frac{BW + FW}{BW + FW + SC}$$

$$\alpha = \frac{BW}{BW + FW}$$

$$k = \frac{BW}{SC}$$

III. Correlation between T_1 and W

$$\frac{1}{T_1} = P \times \frac{1}{W} + \left(\frac{1}{T_{1f}} - P \right)$$

$$P = k \times \left(\frac{1}{T_{1b}} - \frac{1}{T_{1f}} \right)$$

Abbreviations; T_{1b} : T_1 of bound water, T_{1f} : T_1 of free water.

α : bound water fraction, W : water content

k : hydration fraction (water binding to solid tissue component)

BW: bound water, FW: free water

SC: solid tissue component

と $1/T_1$ の関係を見ると, A, B それぞれ相関係数 0.995, 0.999 の直線関係を認めた (図 2)。

2 生体組織

表 3 は, 正常人 9 名 (volunteer 1~9), 脳腫瘍患者 5 名 (patient 1~5) の血清について測定した結果である。水分含有量 (W), 結合水モル分率 (α), T_1 値, 結合水モル分率 (T_{1b}) はいずれも両者間に有意差はなかった。しかし, patient 5 の T_1 値および T_{1b} 値は, patient 4 の水分含有量 (W) とほぼ同じ値を示したにもかかわらず著明に延長していた。

脳腫瘍組織では, 髄膜腫 3 例, 神経鞘腫 1 例, 転移性脳腫瘍 3 例を対象に検討した。結果を表 4 に示す。 T_1 値, T_{1b} 値の大きな変化に対して α の変化は少なかった。そして, 水分含有量の比較的近い値を示した組織の T_1 値をみると, No. 1 と No. 3 および No. 2 と No. 5 の T_1 値はそれぞ

表 2 Values of bound water fraction (α), hydration fraction (k), T_1 , and T_{1b} in gelatin solutions of valid concentrations

	A (Lot No. ALG 3816)					B (Lot No. ALF 4743)				
Water content (W)	0.709	0.768	0.810	0.845	0.904	0.725	0.764	0.822	0.854	0.893
α	0.292	0.243	0.174	0.142	0.093	0.405	0.267	0.240	0.167	0.129
BW/SC (k)	0.71	0.80	0.74	0.77	0.86	1.1	0.86	1.1	0.98	1.1
T_1 (msec)	111	142	195	280	447	230	277	413	534	767
T_{1b} (msec)	33.5	36.2	36.4	44.3	50.2	98.9	81.0	114	110	136

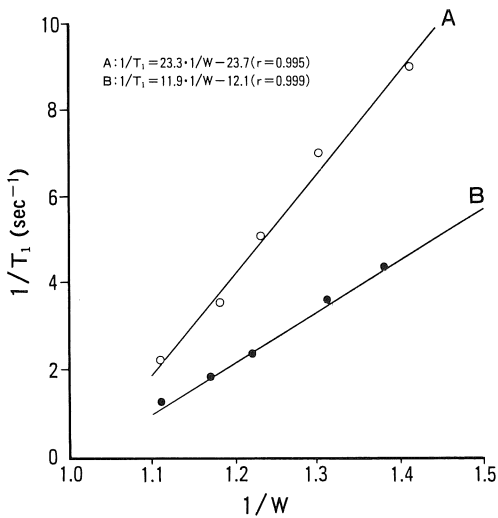


図 2 Linear regression lines of $1/T_1$ versus $1/W$ for two different gelatin solutions.

れ水分含有量の低い組織において延長していた。

このように、 T_1 値と水分含有量との関係は単純ではなかった。

次に、剖検時に採取した脳組織の測定結果を表 5 に示す。No. 3 は発症後約 7 カ月の脳梗塞組織で、No. 1 および No. 2 は組織学的に病変のない大脳白質である。脳梗塞組織（白質）においては、 W 、 T_1 は大脳白質に比して高いが、 α 、 T_{1b} は逆に低下していた。

脳腫瘍組織を正常大脳白質と比較すると、 W 、 T_1 、 T_{1b} はいずれも高い値を示すことが多かったが、 α は低い値を示す傾向にあった。

表 3 Water content, bound water fraction, T_1 , and T_{1b} measured in sera of volunteer and patient groups

	W	α	T_1 (msec)	T_{1b} (msec)
volunteer 1	0.912	0.153	581	112
volunteer 2	0.895	0.169	665	147
volunteer 3	0.907	0.149	630	122
volunteer 4	0.906	0.112	707	108
volunteer 5	0.898	0.093	693	88.0
volunteer 6	0.918	0.148	630	121
volunteer 7	0.905	0.141	653	121
volunteer 8	0.896	0.135	565	96.3
volunteer 9	0.910	0.108	640	91.3
mean	0.905	0.134	640	112
patient 1	0.896	0.127	797	114
patient 2	0.882	0.092	801	107
patient 3	0.915	0.094	710	90.3
patient 4	0.933	0.148	660	128
patient 5	0.940	0.126	1,028	210
mean	0.913	0.117	799	130

ヒト血清と固形組織（脳腫瘍および大脳白質）との比較では、 W 、 T_1 、 T_{1b} はいずれも血清で高値であるが、 α には明らかな傾向はなかった。

5 考 察

Damadian¹⁵⁾ により腫瘍組織における T_1 値の延長が指摘されて以来、種々の物質や生体組織を

表 4 Values of water content, bound water fraction, T_1 , and T_{1b} in brain tumor tissues

	W	α	T_1 (msec)	T_{1b} (msec)
No. 1 meningioma (transitional)	0.840	0.156	315	55.4
No. 2 meningioma (angioblastic)	0.866	0.122	551	84.6
No. 3 meningioma (hemangiopericytic)	0.836	0.124	382	55.2
No. 4 neurinoma	0.807	0.123	285	39.2
No. 5 metastasis (breast cancer)	0.869	0.131	336	50.3
No. 6 metastasis (lung cancer)	0.846	0.112	328	41.9
No. 7 metastasis (lung cancer)	0.939	0.120	950	177

表 5 Water content, bound water fraction, T_1 , and T_{1b} for brain tissues taken from autopsy

	W	α	T_1 (msec)	T_{1b} (msec)
No. 1 white matter	0.690	0.165	227	40.7
No. 2 white matter	0.662	0.187	194	38.9
No. 3 infarction	0.784	0.081	346	32.4

対象に T_1 値に影響を及ぼす諸因子についての基礎的検討が進められてきた。その結果、生体組織から観測される T_1 値は、その水分含有量に大きく影響を受けることが明らかにされてきている。Inchら^{3),4)}は、生体組織およびゼラチン水溶液を用いた実験から水分含有量と T_1 値との間に単純な反比例関係を見出している。これは、今回われわれが採用した two-state model において、 T_{1b} と k の値を定数と仮定することにより理論的に導くことができる(表 1-III)。しかしまた、水分含有量だけでは説明のつかない T_1 値の変化も多く報告されており^{10),16)~18)}、これは結合水モル分率(α)または k の値の変化で説明されてきた^{19),20)}。そして、結合水 T_1 値(T_{1b})の組織間の差は有意でないとされてきた^{19)~21)}。ところが、今回のわれわれのゼラチン水溶液の実験では、図 2 に示すようにゼラチン A, B はそれぞれ $1/W$ と $1/T_1$ がほぼ直線関係を示し、 W と T_1 が反比例関係にあることになり Inch らの結果と一致した。しかし、もし T_1 値が水分含有量のみによって規定されるとすれば、A, B とも同じ一つの直線になる

はずであるが、A, B を分けずに検定を行うと相関係数は 0.792 となり、ゼラチン A, B は二つの直線により近似される。これは A, B 間で T_{1b} または k の値が異なるためであると考えられる。実際 A と B の T_{1b} , k の平均は、それぞれ 40.1 と 0.78 および 108 と 1.0 でいずれも有意な相違をみた。この違いはゼラチンの平均分子量、構成アミノ酸、また、わずかな不純物の差などに起因する結合水の量および質の相違を示すものと考えられる。

このゼラチンの実験においては、従来組織間での有意な差はないとされてきた T_{1b} 値も大きく変化していたことがとくに注目される。Fung ら¹⁹⁾は、筋組織における T_1 値のラーモア周波数と温度依存性を検討して、腫瘍の T_1 値延長は α の低下によっており、 T_{1b} の変化はないとした。しかし、彼らは α の値を直接算出し得ておらず、また、 -5°C 以下での不凍水の T_1 を T_{1b} と見なしている。不凍水は結合水に由来すると考えられるがその物性は異なり²²⁾、また、高磁場(4.5~60 MHz)では T_1 値の変化率が減少^{23),24)} するため組織間の

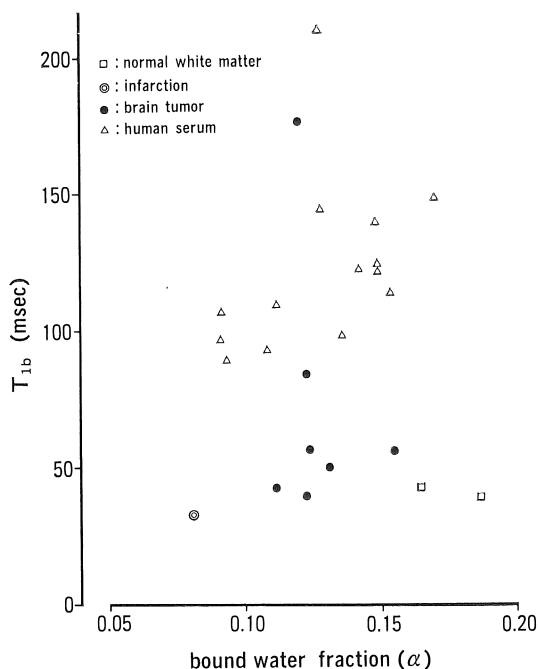


図 3 Distribution of values of bound water fraction and T_{1b} in various states of biological tissues.

差を捉えられなかったと考えられる。また Fullerton ら²¹⁾は、 T_{1b} がラーモア周波数と比例関係になることを指摘した。これは、 T_{1b} の組織間の差がラーモア周波数における変化に比して有意に小さいためそのような結果になったと考えられる。したがって、この結果からただちに、あるラーモア周波数における T_{1b} がいかなる組織でも一定であるとはいえない。われわれの実験では、結合水モル分率 (α) を直接測定しており、それをもとに T_{1b} を算出している。そして、 T_1 値測定を低磁場 (465 ガウス, ラーモア周波数 2.12 MHz) で行っているため有意な T_{1b} 値の変化を捉えることができたと考えられる。

Two-state model によれば、 T_1 値は α と T_{1b} の二つの変数によって規定され、これらはそれぞれに種々の因子によって変化するものと考えられ

る。したがって、ある精度以上をもってこれらの値を測定すれば、ゼラチンの場合と同様に、生体組織においても T_1 値からより多くの生体内情報をひき出すことができると思われる。

そこで、生体組織において測定した α と T_{1b} との関係を図 3 に示す。ヒト血清の結合水モル分率は 9 から 17 % と変動しており、脳組織との差はないが、 T_{1b} は 80 msec 以上で腫瘍や脳組織 (50 msec 前後) と大きく隔たっている。しかも patient 5 の T_{1b} は著明な延長をみており、これは血清総タンパク 3.8 g/dl、血清カリウム 9.0 mEq/l の値を反映した結合水の存在状態を捉えたものと考えられる。また、固形組織においても T_{1b} 値は種々に変化している。壊死組織がその大部分を占めていた脳腫瘍の一例 (表 4 の No. 7) では、結合水モル分率は他の腫瘍と同程度にもかかわらず T_{1b} は著明に延長していた。また、meningioma において血管成分の豊富な angioblastic type (表 4 の No. 2) では、transitional type (No. 1) および hemangiopericytic type (No. 3) よりも T_{1b} は延長していた。一方、脳梗塞例では正常組織よりも結合水モル分率が低く、 T_{1b} よりも α の値でより組織特異性が示される場合もあった。

検討数も少なく、病態生理や組織学的変化と T_{1b} および α との対応も明らかでないが、少なくとも生体組織においても α や T_{1b} は有意に変化する可能性が示された。したがって、 α や T_{1b} に影響する因子の検討を進めることにより、 T_1 値のみでは不明瞭であった生体組織の種々の病態解析がこれらによって成され得るものと考えられる。さらにプロトン密度、 T_1 、 T_2 、あるいは温度やラーモア周波数依存性などのデータを組み合わせることにより、MR 法はより多くの分析的な情報をわれわれに提供してくれるようになるであろう。

6 結 語

1) 熱分析で結合水モル分率 (α) を測定し、

two-state model による結合水 T_1 値 (T_{1b}) を算出した。

2) 結合水 T_1 値 (T_{1b}) および結合水モル分率 (α) は生体組織における病態生理を反映して変化するパラメータと考えられた。

文 献

- 1) 古瀬和寛, 井沢 章, 鎌田憲子, 他: 緩和時間の臨床的意義. 映像情報, 17: 241-246, 1985.
- 2) L. Bakay, R.J. Kurland, R.G. Parrish, et al.: Nuclear magnetic resonance studies in normal and edematous brain tissue, *Exp. Brain Res.*, 23: 241-248, 1975.
- 3) W.R. Inch, J.A. McCredie, R.R. Knispel, et al.: Water content and proton spin relaxation time for neoplastic and non-neoplastic tissues from mice and humans, *J. Natl. Cancer Inst.*, 52: 353-356, 1974.
- 4) W.R. Inch, J.A. McCredie, C. Geiger, et al.: Spin-lattice relaxation times for mixtures of water and gelatin or cotton, compared with normal and malignant tissue, *J. Natl. Cancer Inst.*, 53: 689-690, 1974.
- 5) K.G. Go & H.T. Edzes: Water in brain edema, *Arch. Neurol.*, 32: 462-465, 1975.
- 6) S. Naruse, Y. Hirokawa, C. Tanaka, et al.: Proton nuclear magnetic resonance studies on brain edema, *J. Neurosurg.*, 56: 747-752, 1982.
- 7) 上平 恒: 生体中の水. 蛋白質・核酸・酵素, 21: 575-582, 1976.
- 8) R. Cooke & I.D. Kuntz: The properties of water in biological systems. *Ann. Rev. Biophys. Bioeng.*, 3: 95-126, 1974.
- 9) W. Drost-Hansen & J.S. Clegg: Cell associated water, Academic Press, New York, 1979.
- 10) B.M. Fung: Correlation of relaxation time with water content in muscle and brain tissues, *Biochim. Biophys. Acta*, 497: 317-322, 1977.
- 11) P.A. Bottomley, T.H. Foster, R.E. Argersinger, et al.: A review of normal tissue hydrogen NMR relaxation times and relaxation mechanisms from 1-100 MHz: dependence on tissue type, NMR frequency, temperature, species, excision, and age, *Med. Phys.*, 11: 425-448, 1984.
- 12) J.R. Zimmerman & W.E. Brittin: Nuclear magnetic resonance studies in multiple phase systems: lifetime of a water molecule in an adsorbing phase on silica gel, *J. Phys. Chem.*, 61: 1328-1333, 1957.
- 13) M. Furuse, T., Gonda, H. Kuchiwaki, et al.: Thermal analysis on the state of free and bound water in normal and edematous brains, In *Recent Progress in the Study and Therapy of Brain Edema*. (ed. by K.G. Go & A. Baethmann), Plenum Press, New York, London, 1984, p. 293-298.
- 14) S. Inao, H. Kuchiwaki, N. Hirai, S. Takada, et al.: Dynamics of tissue water content, free and bound components, associated with ischemic brain edema, In *Brain Edema* (ed. by Y. Inaba, I. Klatzo, M. Spatz), Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, New York, Tokyo, 1985, p. 360-366.
- 15) R. Damadian: Tumor detection by nuclear magnetic resonance, *Science*, 171: 1151-1153, 1971.
- 16) P.T. Beall & C.F. Hazlewood: Nuclear magnetic resonance patterns of intracellular water as a function of HeLa cell cycle, *Science*, 192: 904-907, 1976.
- 17) P.S. Belton & K.J. Packer: Pulsed NMR studies of water in striated muscle III. The effects of water content, *Biochim. Biophys. Acta*, 354: 305-314, 1974.
- 18) C.F. Hazlewood, G. Cleveland & D. Medina: Relationship between hydration and proton nuclear magnetic resonance relaxation times in tissues of tumor-bearing and non-tumor-bearing mice: implications for cancer detection, *J. Natl. Cancer Inst.*, 52: 1849-1853, 1974.
- 19) B.M. Fung, D.A. Wassil, D.L. Durham, et al.: Water in normal muscle and muscle with a tumor, *Biochim. Biophys. Acta*, 385: 180-187, 1975.
- 20) G.D. Fullerton, J.L. Potter & N.C. Dornbluth: NMR relaxation of protons in tissues and other macromolecular water solutions, *Magnetic Reso-*

- nance Imaging*, 1: 209-228, 1982.
- 21) G.D. Fullerton, I.L. Cameron & V.A. Ord: Frequency dependence of magnetic resonance spin-lattice relaxation of protons in biological materials, *Radiology*, 151: 135-138, 1984.
- 22) 片山誠二: 不凍水の生物化学. 化学の領域, 36: 100-109, 1982.
- 23) R. Damadian, K. Zaner, D. Hor, et al.: Nuclear magnetic resonance as a new tool in cancer research: human tumors by NMR, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 222: 1048-1076, 1973.
- 24) J.G. Diegel & M.M. Pintar: A possible improvement in the resolution of proton spin relaxation for the study of cancer at low frequency, *J. Natl. Cancer Inst.*, 55: 725-726, 1975.